



6º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica - CIIC 2012
13 a 15 de agosto de 2012 – Jaguariúna, SP

ATIVIDADE MICROBIOLÓGICA EM SOLOS SOB CULTIVO DE CANA DE AÇÚCAR

AMANDA M. **SOUZA**¹; ROSANA F. **VIEIRA**²; NILZA P. **RAMOS**³; JOSÉ RICARDO

PUPO **GONÇALVES**⁴

12411

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade microbiológica e enzimática de solos cultivados com cana de açúcar. Os solos, Latossolo Roxo, foram coletados em área de 1 ano de corte A(1), três anos de corte D(3), cinco anos de corte C(5) e 8 anos de corte H(8), nas profundidades de 0-10 cm e 10-20 cm. O solo A(1), ao contrário dos outros, recebe regulares aplicações de vinhaça. Os parâmetros avaliados foram: atividade de hidrólise do diacetato de fluoresceína (HDF), potencial de mineralização de N (PMN) e atividades das enzimas glucosidase e urease. O solo C(5) apresentou os melhores resultados em termos de atividade por unidade de C orgânico do solo. Ressalta-se, porém, que as variabilidades dos dados obtidos foram altas, evidenciando a necessidade de um novo estudo com um número bem maior de amostras, para que os resultados possam ser realmente comprovados. É interessante que as frações de C orgânico dentro de cada solo sejam também avaliadas. Isto nos daria uma idéia da quantidade de C lábil e recalcitrante em cada solo, que poderia ser utilizado pelos micro-organismos.

¹ Bolsista Embrapa: Graduação em Ciências Biológicas, PUC, Campinas-SP
amandamendes89@yahoo.com.br

² Orientadora: pesquisadora, Embrapa Meio Ambiente, Campinas- SP

³ Orientador colaborador, Embrapa Meio Ambiente, Campinas-SP

⁴ Orientador colaborador, Embrapa Meio Ambiente, Campinas-SP



ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the microbiological and enzymatic activity of soils cultivated with sugar cane. The Oxisols were collected in area with one, three, five and eight years after reform of sugar cane plantation, at 0-10 cm and 10-20 cm depth. The soil A(1), unlike the other, receives regular application of vinasse. The parameters evaluated were: fluorescein diacetate hydrolysis activity, nitrogen mineralization potential and glucosidase and urease activities. The C(5) soil showed the best results in terms of activity per unit of soil organic carbon. It should be noted, however, that the data variability obtained were high, suggesting the need for a new study with a much larger number of samples so that results can be truly proven. It is interesting that the organic C fractions within each soil are also evaluated. This would give us an idea of the amount of labile and recalcitrant carbon in each soil that could be used by the microorganisms.

INTRODUÇÃO

Qualidade do solo é o resultado da interação entre fatores químicos, físicos e biológicos do solo. A matéria orgânica, que é crucial para o solo, uma vez que tem efeito na sua estrutura, nas relações com a água do solo, na fertilidade e também na biodiversidade, é um fator chave na avaliação da qualidade do solo. Mudanças na matéria orgânica do solo ocorrem, porém, muito lentamente, o que faz com que frações específicas, como os seus componentes ativos biologicamente, incluindo biomassa microbiana e atividades enzimáticas, sejam geralmente avaliadas.

Os micro-organismos do solo sintetizam e secretam enzimas extracelulares, que têm um papel importante no ciclo de nutrientes do solo. Fatores que venham a afetar a atividade microbiana irão afetar a produção de enzimas e, conseqüentemente, a fertilidade do solo. Deste modo, atividades enzimáticas do solo são, frequentemente, utilizadas para monitorar impactos de manejos de solo, práticas agrícolas ou mesmo o efeito de contaminantes na saúde do solo (GIANFREDA et al., 2005).

Este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito do cultivo de cana de açúcar, por diferentes anos, na atividade microbiológica e enzimática do solo.

MATERIAL E MÉTODOS

Sítios amostrados

As coletas de solos foram conduzidas em quatro áreas cultivadas com cana de açúcar. Foram retiradas quatro amostras de solo por área, nas profundidades de 0 – 10 cm e 10 – 20 cm, num total de 32 amostras. Os solos coletados foram armazenados em isopor com gelo e levados ao laboratório, onde no prazo de no máximo 48 h foram iniciadas as análises. Os sítios amostrados, todos Latossolo Roxo, foram designados como A, D, C e H e apresentaram as seguintes características: sítio A: cana de 1º corte, recebe grandes quantidades de vinhaça; sítio D: cana de 3º corte; sítio C, cana de 5º corte e sítio H, cana de 8º corte. As características químicas destes sítios são apresentadas na Tabela 1.

TABELA 1: Características químicas dos solos estudados.

Locais de coleta	pH (CaCl ₂)	Corg (%)	P resina	K	CTC
0-10 cm de profundidade					
A(1)	6,30	3,23	98,25	5,63	129,34
D(3)	5,35	2,21	23,75	2,36	103,74
C(5)	5,25	2,00	18,00	4,15	95,64
H(8)	5,33	2,74	14,88	8,80	105,80
10-20 cm de profundidade					
A(1)	6,23	2,69	47,00	3,15	109,03
D(3)	5,40	1,99	18,00	0,83	96,58
C(5)	5,40	1,76	15,00	2,90	94,15
H(8)	5,15	1,98	14,75	5,00	82,50

Atividade microbiana

A técnica de determinação do N potencialmente mineralizável foi utilizada para a avaliação da atividade dos microrganismos do solo. Este método baseia-se na incubação do solo, a 40°C, por sete dias, sob condições anaeróbias, com posterior determinação dos teores de NH₄⁺ no solo (KANDELER, 1996). Do mesmo modo, a

atividade de hidrólise do diacetato de fluoresceína (HDF) foi também utilizada para medir a atividade dos micro-organismos. Ela foi determinada pelo método descrito por Adam & Duncan (2001), utilizando 0,5 ml da solução estoque (2000 $\mu\text{g FDA ml}^{-1}$), em 0.5 g de solo.

Avaliação das atividades enzimáticas

A atividade da glucosidase foi realizada conforme metodologia descrita por Alef & Nannipieri (1995). Quatro mL de tampão maleato 0,1M (pH 6,0) e 1mL de 25mM *p*-nitrofenol- β -piranosídeo (PNG) foram adicionados a 1g de solo. A mistura foi incubada a 37°C por 1 hora. Após a incubação foram adicionados 0,5M CaCl_2 e tampão Tris. O *p*-nitrofenol (PNP) foi determinado em espectrofotômetro a 400nm. Os resultados da atividade enzimática foram expressos como $\mu\text{g de } p\text{-nitrofenol h}^{-1} \text{ g}^{-1}$ de solo. A atividade da urease, cujo método se baseia na determinação da amônia liberada após a incubação das amostras de solo com solução de uréia, por 2h a 37°C, foi realizada segundo metodologia de Tabatabai & Bremner, (1972).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O potencial de mineralização de N (PMN) foi bem maior nos tratamentos A(1) e C(5), na camada de 0-10 cm de profundidade (Figura 1.I). O menor valor deste parâmetro foi encontrado no solo D(3). A 10-20 cm o PMN foi maior no tratamento A(1). De novo o menor valor foi obtido para o solo D(3), embora ele não diferisse significativamente do solo H(8). Quando consideramos o PMN por unidade de C orgânico do solo (Figura 1.II), o tratamento C(5) passa a sobressair na camada de 0-10 cm, seguido de perto pelo tratamento A(1). Este aumento em C(5) significa que mais N está sendo mineralizado por unidade de C do solo e, portanto, seria um processo mais eficiente.

A atividade HDF foram significativamente iguais para todos os tratamentos na camada de 0-10 cm de profundidade (Figura 2.I). A 10-20 cm, por outro lado, a atividade HDF foi maior nos tratamentos A(1) e D(3) e igualmente menores nos

tratamentos C(5) e H(8). Quando consideramos a atividade HDF em relação aos teores de C orgânico do solo (Figura 2.II) os maiores resultados, na camada de 0-10 cm, foram obtidos nos tratamentos D(3) e C(5) e o menor no solo A(1), que apresentava o maior teor de C orgânico no solo. Na camada de 10-20 cm os resultados foram praticamente semelhantes aos obtidos a 0-10 cm de profundidade, à exceção do A(1), que neste caso não diferiu significativamente do H(8).

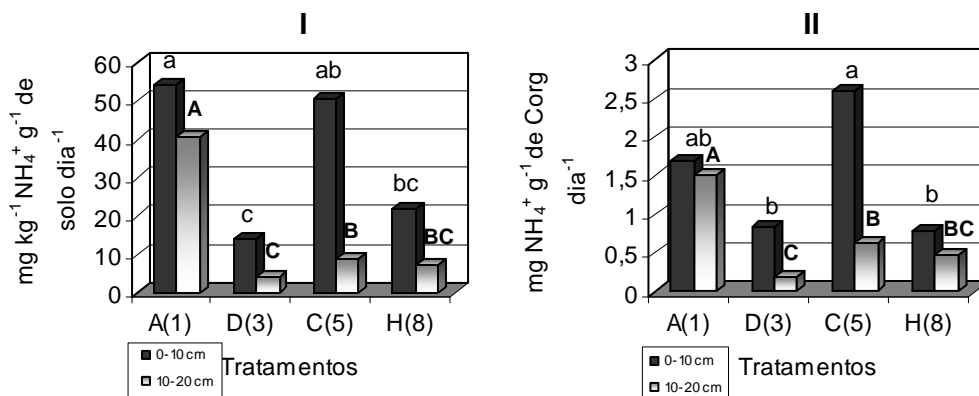


FIGURA 1: Potencial de mineralização de N (PMN, I) e PMN por unidade de C orgânico do solo (II) nos sítios estudados. Colunas de diferentes cores seguidas pela mesma letra minúscula ou maiúscula, não diferem significativamente entre si ($P=0,05$, teste LSD).

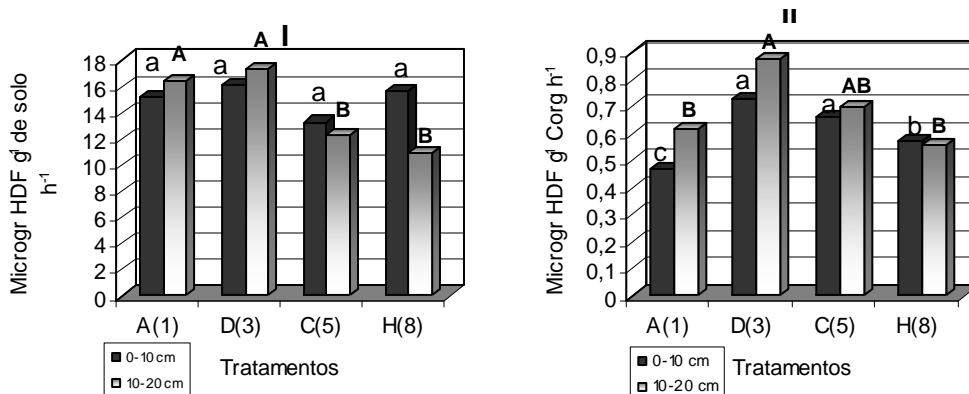


FIGURA 2: Atividade de HDF(I) e atividade de HDF por unidade de C orgânico do solo (II) nos sítios estudados. Colunas de diferentes cores seguidas pela mesma letra minúscula ou maiúscula, não diferem significativamente entre si ($P=0,05$, teste LSD).

A atividade da glucosidase na camada de 0-10 cm (Figura 3.I) foi maior nos solos A(1) e H(8) que apresentaram os maiores teores de C orgânico. Na camada de 10-20 cm a menor atividade daquela enzima foi obtida no solo H(8). Este solo foi o que apresentou a maior diferença em termos de C orgânico da camada de 0-10 cm em relação à camada de 10-20 cm; ou seja, ele foi cerca de 28% menor na última camada. Não foi verificada diferença significativa em relação à atividade da glucosidase por unidade de C orgânico, na camada de 0-10 cm de profundidade. A 10-20 cm a maior atividade foi obtida no solo C(5). Não houve diferença significativa entre os outros solos.

As atividades da urease tanto na camada de 0-10 cm como na de 10-20 cm foram menores no solo D(3). Quando avaliada por unidade de C orgânico do solo a menor atividade permaneceu no solo D(3), a 0-10 cm de profundidade, enquanto não houve diferença significativa entre os solos a 10-20 cm.

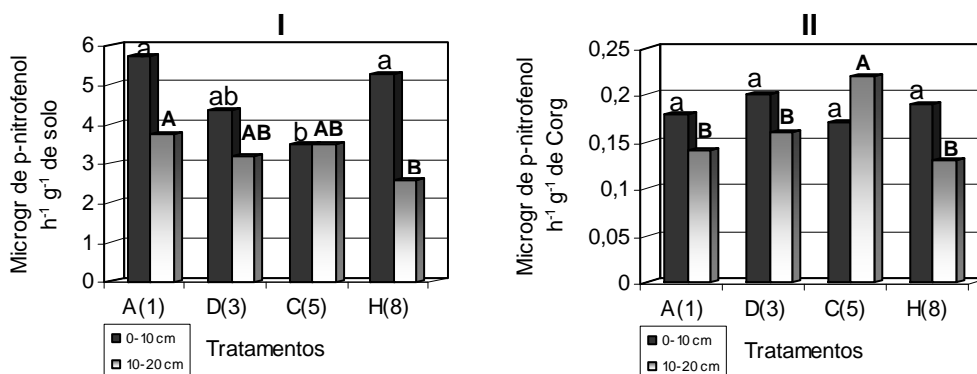


FIGURA 3: Atividade da glucosidase (I) e atividade da glucosidase por unidade de C orgânico do solo (II) nos sítios estudados. Colunas de diferentes cores seguidas pela mesma letra minúscula ou maiúscula, não diferem significativamente entre si (P =0,05, teste LSD).

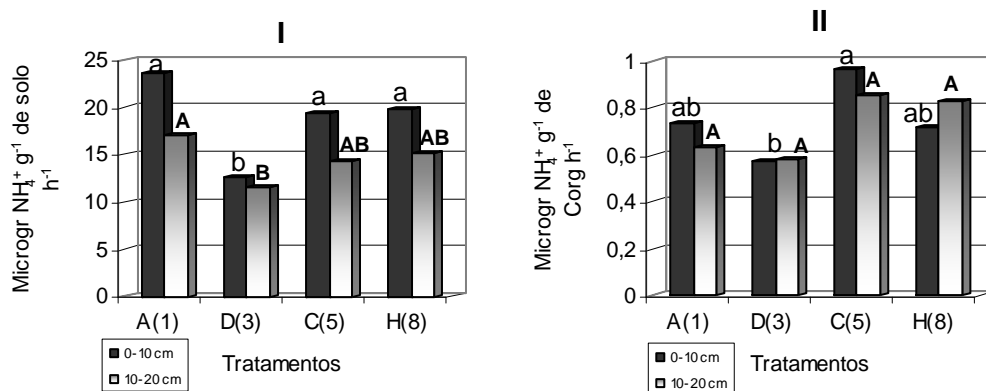


FIGURA 4: Atividade da urease (I) e atividade da urease por unidade de C orgânico do solo (II) nos sítios estudados. Colunas de diferentes cores seguidas pela mesma letra minúscula ou maiúscula, não diferem significativamente entre si ($P=0,05$, teste LSD).

A atividade de HDF a 0-10 cm de solo não diferiu entre os tratamentos. Devemos considerar, porém, que a atividade de HDF, medida em laboratório, designa apenas o potencial do solo, uma vez que são dadas todas as condições adequadas para que a atividade enzimática ocorra. A maior atividade de HDF nos solos C(5) e H(8), a 10-20 cm de profundidade, não esteve ligado ao teor de C org do solo. Se analisarmos os dados em termos de atividade de HDF por unidade de C orgânico, o solo D(3) e C(5) se sobressaem apesar do menor teor de C orgânico, o que pode indicar uma maior atividade microbiológica destes solos. A mesma tendência ocorreu nos solos coletados a 10-20 cm de profundidade. O potencial de mineralização de N demonstrou maiores atividades nos solos A(1) e C(5), tanto em valores absolutos como por unidade de C org. No solo A(1), pelo fato de receber vinhaça, que possui relação C/N baixa, era de se esperar que significativa mineralização de formas imobilizadas de N ocorresse (SILVA et al., 2007). Do mesmo modo, maior atividade da urease foi obtida no solo A(1), embora sem diferença significativa dos solos C(5) e H(8).

A urease é uma enzima envolvida na hidrólise de substratos tipo uréia e sua atividade é crucial na transformação do fertilizante uréia (JIN et al., 2009). Quando avaliada por unidade de C org verifica-se certa tendência a ser maior no solo C(5). A



atividade da glucosidase, enzima envolvida no ciclo do carbono no solo, foi maior nos solos com maiores teores de C orgânico. Com relação à atividade por unidade de C orgânico, o solo C(5) novamente tende a sobressair.

O que pode ser verificado neste experimento é que de alguma forma o solo C(5) apresentou as maiores atividades microbiológicas e enzimáticas, quando avaliadas por unidade de C orgânico do solo. Os resultados, porém, exibiram alto grau de variabilidade, que pode de alguma forma ter comprometido as suas interpretações. Deste modo, recomenda-se que um número bem maior de amostras seja analisado, assim como as frações de C orgânico, em cada solo, de modo a quantificar o C prontamente disponível para os microrganismos. Idealmente, as amostras deveriam ser retiradas ao longo do ano, uma vez que, entre outros fatores, a umidade do solo é crucial na atividade microbiológica do solo.

CONCLUSÃO

Por meio dos resultados obtidos neste trabalho evidencia-se uma possível diferença em termos de atividade microbiológica e enzimática entre os solos estudados. O solo C(5) parece ter uma maior atividade por unidade de C orgânico, o que o colocaria como mais eficiente em termos microbiológicos, em relação aos outros solos. A alta variabilidade dos dados, porém, requer que novas análises sejam realizadas com um número bem maior de amostras e definindo-se as frações do C orgânico dentro de cada solo, para confirmação dos resultados.

AGRADECIMENTOS

À Embrapa Meio Ambiente – CNPMA, pela oportunidade de estágio

REFERÊNCIAS

- ADAM, G.; DUNCAN, H. Development of a sensitive and rapid method for the measurement of total microbial activity using fluorescein diacetate (FDA) in a range of soils. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 33, n. 7/8, p. 943-951, 2001.
- ALEF, K.; NANNIPIERI, P. β -glucosidase activity. In: ALEF, K.; NANNIPIERI, P. (eds). **Methods in applied soil microbiology and biochemistry**. London: Academic Press, p. 350-352, 1995.
- BREMNER J.M. Total Nitrogen. **Methods of soil analysis** Part 2- Chemical and Microbiological Properties, number 9 in the series Agronomy, American Society of Agronomy, Inc., Publisher USA, pp. 1149-1178, 1965.



- BROOKES, P.C.; LANDMAN, A.; PRUDEN, G.; JENKINSON, D.S. Chloroform fumigation and the release of soil nitrogen: a rapid direct extraction method to measure microbial biomass nitrogen in soil. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 17, n. 6, p. 837-842, 1985.
- GIANFREDA, L., RAO, M.A., PIOTROWSKA, A., PALUMBO, G., COLOMBO, C. Soil enzyme activities as affected by anthropogenic alterations: intensive agricultural practices and organic pollution. **Science of Total Environment**, v. 341, n. 1/3, p. 265-279, 2005.
- JIN, K.; SLEUTEL, S.; BUCHAN, D.; DE NEVE, S.; CAI, D.X.; GABRIELS, D.; JIN, J.Y. Changes of soil enzyme activities under different tillage practices in the Chinese Loess Plateau. **Soil and Tillage Research**, v. 104, n. 1, p. 115-120, 2009.
- KANDELER, E. N-mineralization under waterlogged conditions, In: SCHINNER, F., O'HLINGER, R., KANDELER, E., MARGESIN, R. (Eds.), **Methods in Soil Biology**. Springer, Berlin, pp. 141–143, 1996.
- SILVA, M.A.S. da.; GRIEBELER, N.P.; BORGES, L.C. Uso de vinhaça e impactos nas propriedades do solo e lençol freático. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 11, n. 1, p. 1807-1929, 2007.
- TABATABAI, M.A.; BREMNER, J.M. Assay of urease activity in soil. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 4, n. 4, p. 479-487, 1972.
- VANCE, E.D.; BROOKES, P.C.; JENKINSON, D.S. An extraction method for measuring soil microbial biomass C. **Soil Biology and Biochemistry**, v.19, n. 6, p. 703-707, 1987.